Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.4, Winter 2022, P. 479-492
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۴۹۲-۴۷۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

اثر تنش خشکی بر متغیرهای جوانه‌زنی بذر و صفات فیزیولوژیکی گیاه ختمی زینتی (*Alcea rosea* L.)

تکتم اورعی[۱]- محمود شور[۲]*- علی تهرانی فر[۳]- سیدحسین نعمتی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۰۲

چکیده

گل ختمی (*Alcea rosea* L.) یکی از گیاهان با ارزش زینتی می‌باشد که ۳۶ گونه از آن در ایران کشت و کار می‌شود. با توجه به این مسئله که جوانه‌زنی بذور در طبیعت با تنش خشکی همراه است لذا میتوان با مطالعه‌ی تغییرات فیزیولوژیکی و آنتی اکسیدانی گامی مهم در راستای احیای رویشگاه‌های آن برداشت. بدین منظور آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه فروسی مشهد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل دو اکوتیپ مشهد و تهران با پنج سطح خشکی (صفر، ۲-، ۴-، ۶- و ۸- بار) بود. نتایج نشان داد که اثر اکوتیپ و سطوح خشکی بر تمام صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود. اکوتیپ مشهد دارای برتری معنی‌داری نسبت به اکوتیپ تهران بود و بذر آنها توانست در تیمارهای ۶- و ۸- بار به ترتیب ۲۸ و ۲۴ درصد جوانه بزند. میزان طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن اکوتیپ تهران با افزایش پتانسیل اسمزی نسبت به اکوتیپ مشهد بیشتر کاهش یافت. از طرفی فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی نشان داد که در هر دو اکوتیپ فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز کاهش یافت اما فعالیت آنزیم کاتالاز با کاهش بیشتر پتانسیل اسمزی افزایش یافت. میزان پرولین و مالون‌دی‌آلدهید در اکوتیپ مشهد در تیمار ۸- بار نسبت به شاهد به‌ترتیب ۱۲ و ۱/۵ برابر شد. به نظر می‌رسد که اکوتیپ مشهد دارای بیشترین تحمل به خشکی را در مقایسه با اکوتیپ تهران در مرحله جوانه‌زنی دارد. از طرفی همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز با درصد جوانه‌زنی مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل اسمزی، ختمی زینتی، درصد جوانه‌زنی، شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

مقدمه

با توجه با افزایش جمعیت روز افزون کره زمین، پایداری در فضای سبز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تشدید تنش‌های محیطی زمینه‌ساز از بین رفتن گیاهان زینتی است، لذا فراهم نمودن گیاهان با کیفیت و مقاوم در برابر تنش‌های زیستی، جهت استقرار مناسب در فضای سبز یکی از اهداف مهم تولیدکنندگان و اصلاح‌کنندگان گیاهی می‌باشد (۳۶). مسلماً برای تعیین گونه‌های گیاهی برای کشت در فضای سبز هر منطقه متناسب با تمام شرایط میکروکلیمائی و زراعی آن منطقه و با توجه به مقاومت گیاهان نسبت به عوامل نامساعد و با توجه به کمیت آب در مناطق مختلف تصمیم‌گیری می‌شود. گیاه ختمی به دلیل تولید شاخه‌های گل دهنده در تابستان به عنوان گیاهی در جهت طراحی فضای سبز کاربرد دارد. گل ختمی گیاهی چندساله می‌باشد. این گیاه بومی نواحی آسیای شرقی شامل ۷۰ گونه است که ۳۶ گونه از آن در ایران می‌روید (۳۷).

این گیاه علاوه بر جنبه زینتی و کاربرد در باغ‌ها، به دلیل به دلیل حضور رنگدانه‌ها و به منظور تولید مواد رنگی بسیار مورد توجه است. از گل‌های این گیاه به منظور تولید چای دارویی استفاده می‌شود (۳۱). از طرفی خاصیت‌های ضد باکتریایی (۵)، آنتی اکسیدانی (۲۴)، ضد افسردگی، توقف خستگی، بهبود جریان خون (۱۱) این گیاه به اثبات رسیده است. این گیاه دارویی برای درمان سرفه در سرماخوردگی، خلط‌آور و نرم‌کننده مجاری تنفس، برای سوختگی خفیف و التیام نیش حشرات نیز توصیه شده‌است (۴۰).

تنش خشکی یکی از مهمترین استرس‌هایی می‌باشد که عملکرد گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۸). گیاهان با افزایش پاسخ‌های فیزیولوژیکی همانند استراژی‌های اکولوژیکی در برابر شرایط تنش‌زا

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب فارغ‌التحصیل دکتری، دانشیار، استاد و استادیار گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: shoor@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.60838.0

مقابله می‌نمایند. با توجه به این مطلب که گیاهان در کدام مرحله رشدی تحت تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند پاسخ‌های متفاوتی بروز می‌دهند. گیاهان در هر مرحله رشدی ممکن است تحت تنش خشکی قرار گیرند اما مهمترین مرحله بحرانی، جوانه‌زنی می‌باشد که در این مرحله حضور تنش، به رقبای برتر اجازه رشد و نمو می‌دهد (۳۸). مرحله جوانه‌زنی شامل تمام تغییرات فیزیولوژیکی، سلولی و مولکولی می‌باشد که برای رشد جنین و استقرار بعدی گیاهچه، مرحله‌ای حیاتی به شمار می‌رود. بسیاری از محققین پاسخ‌های گیاهان مختلف را در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای گزارش نموده‌اند که شامل مطالعه بر محصولات زراعی مانند گندم (*Triticum aestivum* L.)، جو (*Avena sativa*)، گیاهان دارویی همانند: مریم گلی (*Salvia* spp.) و گیاهان زینتی چون تاج خروس (*Amaranthus mangostanus*) و آفتابگردان (*Helianthus annuus*) است اما گزارش‌های کمی در مورد گیاهانی که علاوه بر جنبه زینتی جنبه دارویی داشته باشند، وجود دارد (۲، ۳۳، ۱، ۴۳ و ۴۲).

کشور ایران با متوسط بارندگی ۲۴۰ میلی‌متر جزو مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌گردد. علاوه بر این به دلیل افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن سبب شده دمای کره زمین حدود یک درجه سانتی‌گراد افزایش یابد و از سویی دیگر تحقیقات نشان داده‌است که شدت و تعداد خشکی‌ها در حال افزایش است (۲۶ و ۲۷).

در هنگام تنش خشکی فرآیند تغییرات متابولیکی که در میتوکندری و کلروپلاست منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردند که منجر به آسیب به ماکرو مولکول‌ها، اجزای سلولی و پراکسیداسیون لیپیدها می‌گردند. گونه‌های فعال اکسیژن از طریق سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت آنزیمی یا غیر آنزیمی مهار می‌شود. از آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز (SOD)[1]، پراکسیداز (POD)[2] و کاتالاز (CAT) اشاره نمود (۸). از برجسته‌ترین مکانیزم‌های حفاظتی جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن هستند که رادیکال‌های آزاد سوپراکسید را به پراکسید و در نهایت پراکسید هیدروژن را به اکسیژن، هیدرژن و آب تبدیل می‌نمایند (۲۲). از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی هم می‌توان به پرولین اشاره نمود (۱۲). پرولین به ملکول‌های آب در غشاء متصل می‌شود و از تخریب ساختارهای سلولی تحت شرایط تنش‌زا جلوگیری می‌کند همچنین سبب حذف رادیکال‌های اکسیژن و هیدروکسیل می‌شود، به عنوان کلاته کننده فلزات و تثبیت کننده پروتئین‌ها نیز مشهور است (۲۰).

فرآیند جوانه‌زنی اولین و حساس‌ترین مرحله رشد و نمو گیاه می‌باشد زیرا مراحل اولیه رویش گیاه، در تکامل گیاهان نقش مهمی را بر عهده دارند و همچنین پاسخی سیستمیک است که شامل تعاملات دوجانبه بین جنین و آندوسپرم می‌باشد (۴۷). تحت تنش خشکی فعالیت آنزیم‌ها تغییر می‌یابد و منجر به کاهش رشد جنین می‌شود. تاکنون مطالعه‌ای بر جنبه‌های فیزیولوژیکی این گیاه در طی جوانه‌زنی و همچنین پتانسیل سطح آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات محافظت کننده (پرولین، کربوهیدرات و ...) به منظور جلوگیری از تغییرات فعالیت‌های فیزولوژیکی بذور در حین جوانه تحت تنش خشکی صورت نپذیرفته است. با توجه به رویشگاه‌های این گونه که تنها در بخش‌های خاصی از ایران گزارش شده‌است، می‌توان با مطالعه بر اثر تنش خشکی روی تکثیر این گیاه گامی مهم در جهت کشت و کار آن در فضای سبز برداشت. با توجه به این که تنش خشکی از مهمترین عوامل محدودکننده جوانه‌زنی بذر گیاهان زینتی می‌باشد، این تحقیق با هدف بررسی خشکی بر صفات رشدی و تغییرات آنزیمی در حین جوانه‌زنی گیاه ختمی زینتی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی اثر تنش خشکی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و تغییرات فیزیولوژی و فعالیت آنزیم‌ها بر دو اکوتیپ، مشهد (اکوتیپ ۱) و تهران (اکوتیپ ۲) گیاه ختمی، آزمایشی در دو بخش به صورت فاکتوریل بر مبنای طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۴ در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام پذیرفت. بذور از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. تیمارهای خشکی شامل ۵ سطح (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸- بار) با استفاده از پلی اتیلن گلایکل بر دو اکوتیپ مشهد و تهران گل ختمی اجرا شد. غلظت پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ از طریق معادله (۱) محاسبه شد (۳۵):

$$QS = (1.18\times10^{-2})C - (1.18\times10^{-4})C^2 + (2.67\times10^{-4})CT + (8.39\times10^{-7})C^2T$$

که در این رابطه QS پتانسیل اسمزی بر اساس بار، C غلظت پلی اتیلن گلایکل بر اساس گرم در لیتر، T درجه حرارت بر اساس درجه سانتی‌گراد است.

ابتدا بذرهای دو اکوتیپ مشهد و تهران ختمی توسط هیپوکلرید سدیم ده درصد به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی شدند و سپس با آب مقطر سه مرتبه شستشو شدند. در داخل هر پتری‌دیش ۲۵ بذر قرار گرفت و داخل هر پتری‌دیش ۵ میلی‌لیتر محلول قرار گرفت. سپس بذرها به انکوباتور با دمای ۱± ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بذرها به طور روزانه بازبینی و تعداد بذرهای جوانه زده (دارای طول ریشه‌چه ۱-۲ میلی‌متر) ثبت شدند. بعد از پایان مرحله جوانه‌زنی سرعت و درصد جوانه‌زنی، طول ساقه و ریشه‌چه و وزن تر گیاهچه‌ها محاسبه شد. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از معادله ۲ و برای سرعت جوانه‌زنی از معادله ۳ استفاده شد (۴):

$$GP = 100\frac{NG}{NT}$$ معادله (۲)

که در آن NG تعداد بذرهای جوانه‌زده و NT تعداد کل بذرها

1- Superoxide dismutase
2- Peroxidase

می‌باشد.

$$Rs = \sum_{i=1}^{n} \frac{Si}{Di}$$

معادله (۳)

که در آن Rs سرعت جوانه‌زنی (تعداد بذر در روز)، Si تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز و Di تعداد روز تا شمارش n ام می‌باشد.

همچنین در بخش دوم آزمایش پس از چهارده روز، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و غلظت مالون‌دی آلدهید، پرولین نیز با استفاده از روش‌های زیر اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها ابتدا ۰/۲ گرم بافت برگ با کمک نیتروژن مایع آسیاب شد و به آن یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی EDTA ۰/۵ مولار و پلی‌وینیل پلی پیرولیدون دو درصد اضافه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتیریفیوژ شد. سپس از محلول رویی برای اندازه‌گیری، SOD، POD و CAT با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز (SOD) بر اساس روش گیانوپالیتس و رایس (۱۹) با اندکی تغییرات سنجیده شد. مخلوط واکنش آنزیمی شامل ۹۳۵ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میلی‌مولار، ۱۵ میکرولیتر ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده‌بود. پس از آماده سازی نمونه‌های کنترل (شاهد) و بلانک (مخلوط فاقد آنزیم که توسط فویل پوشانده شده)، به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی، نمونه بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و نمونه‌های شاهد و عصاره آنزیمی، به مدت ۱۵ دقیقه در شیکر با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دارای دو عدد لامپ فلورسنت ۲۰ وات با ۱۰۰ دور در دقیقه شیک شدند. سپس مقدار جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و فعالیت آنزیمی بر مبنای واحد آنزیمی بر میلی‌گرم وزن تر گزارش شد. مقداری از عصاره که بتواند احیاء نیتروبلوتترازولیوم را ۵۰ درصد بازداری کند معادل یک واحد آنزیمی در نظر گرفته می‌شود.

از برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) از روش این و همکاران (۲۵) استفاده شد. ۱۹ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد، ۲۸ میکرولیتر محلول گایاکول ۴۵ میلی‌مولار، ۵۰ میلی‌لیتر سدیم بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با هم مخلوط و به آن ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد .تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Bio Quest, CE 2502, UK) خوانده شد و فعالیت آنزیم پراکسیداز مساوی با جذب خوانده شده تقسیم بر ۲۶/۶ می‌باشد که بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر بر دقیقه گزارش شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش لاک (۳۳) اندکی تغییرات استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با ۵۰ میلی‌مولار از بافر فسفات حاوی پراکسید هیدروژن۱۰ میلی‌مولار مخلوط و تغییرات جذب آنها در طول موج ۲۴۰ نانومتر از راه اندازه‌گیری تجزیه پراکسید هیدروژن توسط اسپکتروفتومتر به صورت تغییرات ثبت شد. فعالیت آنزیمی با استفاده (OD/min) جذب بر زمان از قانون بیر لامبرت و با ضریب خاموشی کاتالاز ۳۹/۴ $mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه و در نهایت بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه بیان شد.

برای سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون‌دی آلدهید (MDA) به عنوان محصول پراکسیده شدن اسیدهای چرب غشاها به روش هلس و پارکر (۲۳) اندازه‌گیری شد. در ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ با نیتروژن مایع آسیاب و به آن پنج میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد اضافه شد. عصاره به مدت ۲۰ دقیقه با دستگاه سانتریفیوژدور ۱۴۰۰ در دمای چهار درجه سلیسیوس سانتریفیوژ شد سپس، به یک میلی‌لیتر از محلول رویی، پنج میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس نمونه‌ها مجدداً سانتریفیوژ شدند. ماده قرمز رنگ مالون‌دی آلدهید تیوباربیوتریک اسید (MDA-TBA) تولید شده، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد و جذب سایر رنگیزه‌های اختصاصی نیز، در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. تعیین غلظت مالون‌دی آلدهید از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$، بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد.

میزان پرولین به روش پیشنهاد بییتس و همکاران (۱۰) اندازه‌گیری شد، نیم گرم از بافت برگ با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد مخلوط و به شدت تکان داده شد. در نهایت ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره بدست آمده را با سانتریفیوژ ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر با پنج میلی‌لیتر نین‌هیدرین به مخلوط اضافه گردید. در مرحله بعد پنج میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به هر نمونه اضافه شد و نمونه داخل حمام آب جوش یا بن‌ماری به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد. به هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردید. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون قرار داده شدند و میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید. منحنی کالیبراسیون با استفاده از استاندارد ال پرولین رسم و میزان پرولین آزاد نمونه‌ها بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

محاسبات آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS 13.2 JMP و Excel انجام شد و میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثر تیمارها بر پارامترهای رشدی

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثرات تیمارهای اکوتیپ، تنش خشکی و اثرات متقابل اکوتیپ و تنش خشکی بر صفات رشدی گیاهان ختمی معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی اکوتیپ مشهد نسبت به اکوتیپ تهران ۵۸ درصد افزایش نشان داد و افزایش غلظت PEG[1] سبب کاهش درصد جوانه‌زنی گردید به طوری‌که در تیمار ۸- بار نسبت به شاهد ۳۳ درصد کاهش یافت (جدول ۲). بیشترین جوانه‌زنی مربوط به اکوتیپ مشهد در تیمار شاهد (۳۶ درصد) و سپس در تیمارهای ۲- و ۴- بار (۳۲ درصد) مشاهده شد (شکل ۱-a). در هر دو اکوتیپ این شاخص ۳۳ درصد در تیمار ۸- بار نسبت به شاهد کاهش یافت. بیشترین سرعت جوانه‌زنی در اکوتیپ مشهد مشاهده شد و با افزایش غلظت PEG این شاخص کاهش یافت. دو اکوتیپ بیشترین سرعت جوانه‌زنی را در تیمار شاهد داشتند اما در هر دو به طور معنی‌داری با افزایش پتانسیل اسمزی این شاخص کاهش یافت. سرعت جوانه‌زنی در تیمار شاهد در اکوتیپ مشهد ۱۱/۸ (تعداد بذر در روز) و در اکوتیپ تهران ۸/۳ (تعداد بذر در روز) بود. این شاخص در هر دو اکوتیپ در تیمار ۸- بار به ترتیب ۵۶ و ۳۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۱-b). بین درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی گیاهان ختمی همبستگی مثبت و معنی‌داری (r = ۰/۸۳**) مشاهده شد (جدول ۵). اکوتیپ مشهد نسبت به اکوتیپ تهران درصد و سرعت جوانه‌زنی بالاتری داشت، همچنین در این آزمایش تنش خشکی سرعت و درصد جوانه‌زنی را کاهش داد و بیشترین میزان این دو شاخص در تیمار شاهد به ثبت رسید، چنین نتایجی در گیاهان بابونه (*Matricaria recutita* L.)، مرزه (*Satureja hortensis* L.) و گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) نیز گزارش شده است، که با منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی میزان جوانه‌زنی نیز کاهش یافت و ارقام مقاوم‌تر درصد جوانه‌زنی بیشتری نسبت به ارقام حساس‌تر داشته اند (۱۴، ۴۴ و ۸).

جذب آب اولین مرحله جوانه‌زنی به شمار می‌آید (۱۶). به نظر می‌رسد، به واسطه مقاومت احتمالی اکوتیپ مشهد نسبت به تهران، میزان جذب آب در آن بالاتر بوده و در نتیجه درصد و سرعت جوانه‌زنی افزایش یافته است. اگر جذب آب توسط بذر به دلیل افزایش غلظت پلی اتیلن گلایکول مختل گردد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی به آرامی صورت می‌گیرد و با خروج دیرتر ریشه‌چه سرعت جوانه‌زنی نیز کاهش می‌یابد (۳، ۳۲ و ۳۴).

اختلاف معنی‌داری بین اکوتیپ‌های مورد نظر از لحاظ طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در پاسخ به تیمارهای خشکی مشاهده شد بنحوی‌که که این دو شاخص در اکوتیپ تهران نسبت به دیگر اکوتیپ بیشتر کاهش یافت. در تیمارهای خشکی نیز طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با افزایش پتاسیل اسمزی کاهش یافت بنحوی‌که در تیمارهای ۸- به ترتیب نسبت به شاهد ۲۸ و ۴۷ درصد کاهش یافت (جدول ۲). اثرات متقابل اکوتیپ و تنش خشکی نشان داد که در اکوتیپ تهران در ۸- بار بیشترین کاهش طول ساقه‌چه (۵۲ درصد) نسبت به تیمار صفر مشاهده شد همچنین بیشترین کاهش طول ریشه‌چه در اکوتیپ های یک و دو به‌ترتیب (۲۵ و ۳۲ درصد) در تیمار ۸- بار در مقایسه با شاهد در همین اکوتیپ‌ها به ثبت رسید (شکل ۱- c، d). جدول (۵) نشان داد که بین سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. در آزمایش حاضر، هر چند که رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه با افزایش تنش خشکی در هر دو اکوتیپ کاهش یافت اما، رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه در اکوتیپ مشهد نسبت به تهران بیشتر بود. نتایج آزمایش حاضر با نتایج سویک و ارتورک (۳۹) و نتایج زمانی و همکاران (۴۸) همسو بود. یکی از دلایل کاهش طول ساقه‌چه در شرایط تنش خشکی، کاهش انتقال مواد غذایی از بافت‌های ذخیره‌ای بذر به جنین می‌باشد (۲۹). طی تحقیقاتی که زمینه مقاومت گیاهان به تنش خشکی صورت پذیرفته نتایج مختلفی بدست آمده، بطوری‌که برخی گیاهان در مرحله جوانه‌زنی نسبت به تنش خشکی حساس اما در مراحل دیگر مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دهند همچنین برخی گیاهان نسبت به نتیجه ذکر شده در بالا واکنش معکوسی نشان می‌دهند، بنابراین در مرحله جوانه‌زنی صرف مقاومت به خشکی نمی‌تواند بیانگر مقاومت در مراحل دیگر باشد. ولی به طور کلی ثابت شده‌است که گیاهانی که دارای رشد ساقه و ریشه بیشتری باشند نسبت به مراحل بعدی مقاوم‌تر هستند (۶).

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود اثر اکوتیپ و خشکی و اثرات متقابل این دو شاخص بر وزن تر نیز معنی‌دار گردید. بدون در نظر گرفتن سطوح خشکی بیشترین وزن تر گیاهان مربوط به اکوتیپ مشهد بود و همچنین این شاخص با افزایش سطح خشکی کاهش یافت (جدول ۲). نتایج مربوط به اثرات متقابل اکوتیپ و خشکی بر وزن گیاه ختمی در شکل دو مشاهده می‌شود. بیشترین وزن تر در اکوتیپ مشهد در تیمار شاهد (۶/۱۳ گرم) و کمترین وزن تر در اکوتیپ تهران در تیمار ۸- بار (۲/۴۵ گرم) مشاهده شد (شکل ۱- e). کاهش رشد در بسیاری از گیاهان از جمله گلرنگ، یونجه و اسفناج گزارش شده است (۴۱، ۴۵ و ۱۳). همبستگی مثبت بین درصد جوانه‌زنی بذر و وزن تر گیاهچه به ثبت رسید (جدول ۵). با منفی‌تر شدن پتانسیل آب، فشار تورژسانس درون سلول کاهش یافته و مانع افزایش حجم سلول می‌شود. بنابراین، از رشد سلول‌ها و اندام‌های هوایی جلوگیری می‌شود (۷) و همانند نتایج این تحقیق کاهش وزن

1- Poly Ethylene Glycol

تر و کاهش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه را در پی خواهد داشت. کاهش وزن تر گیاهچه از رخدادهای رایجی است که در اکثر گیاهان در شرایط تنش خشکی اتفاق می‌افتد. یکی از دلایل کاهش وزن در پتانسیل‌های آب پایین، تحرک کم مواد غذایی و انتقال کمتر آنها از لپه به محور جنینی است (۲۸).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر صفات جوانه‌زنی بذر در اکوتیپ‌های گیاه ختمی

Table 1- ANOVA for the effect of drought stress on seed germination traits of Hollyhock ecotypes

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ریشه‌چه Radicle length	طول ساقه‌چه Plumule length	وزن ترگیاهچه Seedling fresh weight
اکوتیپ Ecotype	1	940**	39.8**	1435**	37.4**	51.1**
خشکی Drought	4	92.5**	29.3**	50.1**	108**	1.19**
اکوتیپ×خشکی Ecotype×Drought	4	6.13**	5.39**	1.38*	0.537*	0.03**
خطا Error	20	1.067	0.037	0.36	0.135	0.01

**، * به ترتیب معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد.

**, *: significant at 0.01 and 0.05 of probability levels, respectively.

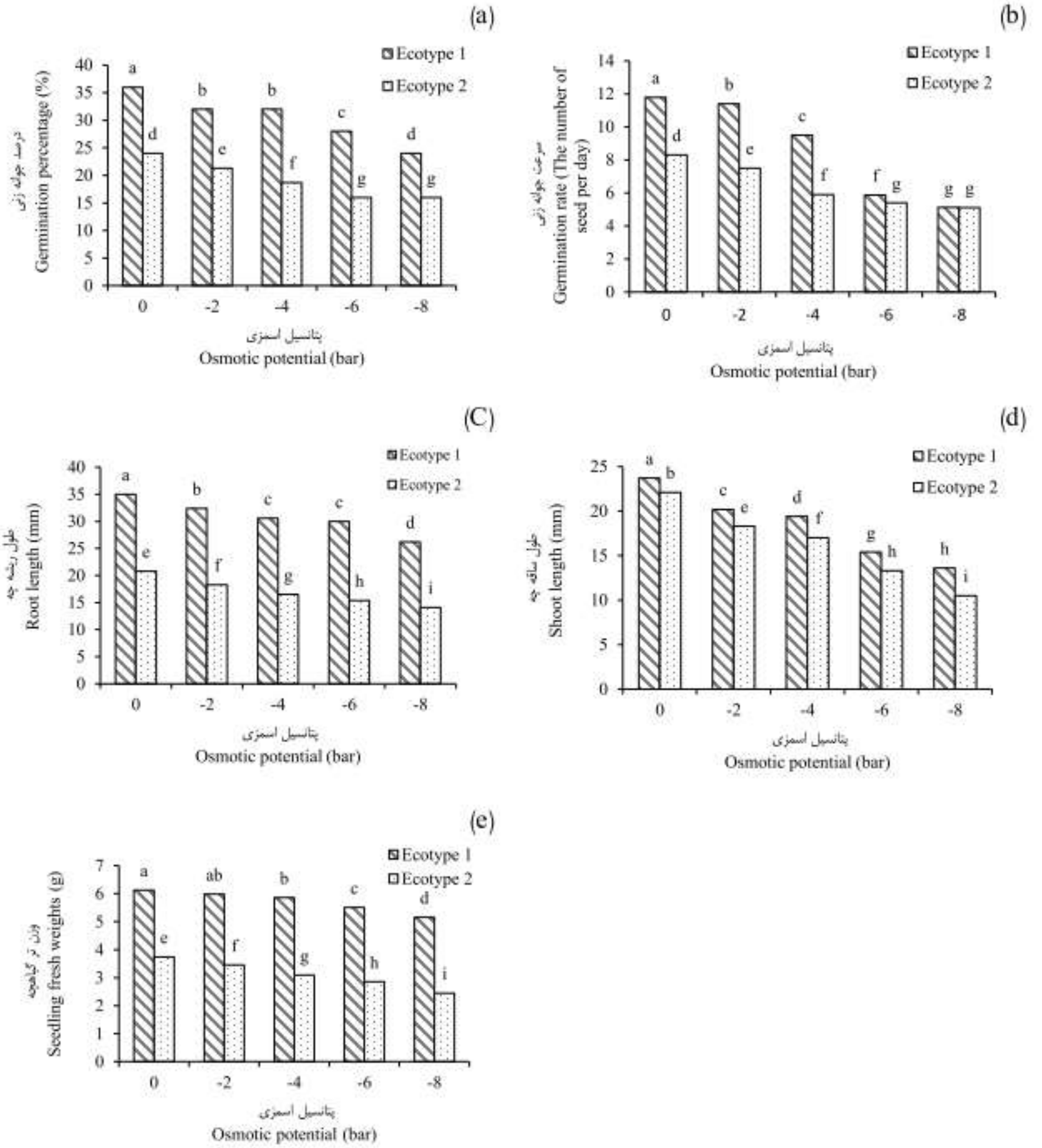
جدول ۲- اثر نوع اکوتیپ و تنش خشکی بر صفات جوانه‌زنی بذر گیاه ختمی

Table 2- The effect of ecotype and drought stress on germination traits of Hollyhock plant

تیمارها Treatments		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate (The number of seed in day)	طول ریشه‌چه Radicle length (mm)	طول ساقه‌چه Plumule length (mm)	وزن ترگیاهچه Seedling fresh weight (g)
اکوتیپ Ecotype	اکوتیپ ۱ Ecotype 1	30.4 a	8.74 a	30.8 a	18.5 a	5.72 a
	اکوتیپ ۲ Ecotype 2	19.2 b	6.44 b	17 b	16.2 b	3.12 b
تنش خشکی Drought stress (bar)	0	30 a	10.1 a	27.9 a	22.9 a	4.93 a
	-2	26.7 b	9.43 b	25.4 b	19.3 b	4.72 b
	-4	25.3 c	7.70 c	23.5 c	18.2 c	4.47 c
	-6	22 d	5.63 d	22.7 d	14.4 d	4.18 d
	-8	20 e	5.12 e	20.1 e	12.1 e	3.80 e

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter within each column shows no significant differences among treatments at 5% of probability level by LSD test.



شکل ۱- اثرات متقابل اکوتیپ × تنش خشکی بر درصد جوانه‌زنی (a)، سرعت جوانه‌زنی (b)، طول ریشه‌چه (c)، طول ساقه‌چه (d) و وزن تر (e) گیاه ختمی

Figure 1- The interaction effects of ecotype ×drought stress on germination percentage (a), germination rate (b), radicle length (c), plumule length (d) and fresh weight of Hollyhock plant (LSD, *p≤0.05*)

اثر تیمارها بر پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

جدول ۳ نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم‌ها (POD ،SOD و CAT) و میزان مالون‌دی آلدهید و پرولین به طور معنی‌داری تحت

اثرات اکوتیپ، خشکی و اثرات متقابل اکوتیپ و خشکی قـرار گرفـت. نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت SOD و POD در اکوتیپ مشـهد (به‌ترتیب، ۲۰۷ و ۱۷/۷ واحد بر گرم بافت تر) مشاهده شد و همچنین بـا افـزایش پتانسـیل اسـمزی از فعالیـت آنـزیم‌هـای SOD و POD به‌ترتیب، ۲۳ و ۳۵ درصد نسبت به شاهد کاسته شد اما فعالیت آنـزیم CAT در تیمار ۸- بار نسبت به شاهد ۳/۸ برابر شد (جدول ۴).

اثرات متقابل اکوتیپ و خشکی نشان داد که فعالیت آنـزیم SOD در اکوتیپ مشهد تا تیمار ۲- بار روندی افزایشی داشـت و سـپس بـا افزایش غلظت PEG کاهش یافت اما در اکوتیپ تهـران بـا افـزایش میزان تنش خشکی از فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد کاسته شد بـه طوری‌که در تیمار ۸- بار نسبت به تیمار بدون تنش ۱۴ درصد کاهش یافت (شکل ۲، a).

فعالیت آنزیم POD در دو اکوتیـپ مشـهد و تهـران بـا افـزایش پتانسیل اسمزی روندی نزولی داشت، بطوری‌که در اکوتیپ تهران این شیب نزولی بیشتر بود و اکوتیپ مشهد در تیمار ۸- بار نسبت به شاهد ۵۳ درصد فعالیت این آنزیم کاهش یافت (شکل ۲، b). فعالیت آنـزیم CAT در هر دو اکوتیپ بـا افـزایش غلظـت PEG رونـدی صـعودی داشت اما در تیمار ۸- بار تفاوت معنی‌داری بین دو اکوتیـپ مشـاهده نشد و نسبت به تیمارهای بدون تنش بـه‌ترتیـب، ۷ و ۳ برابـر شـدند (شکل ۲، c). در تنش خشکی با افزایش گونـه‌هـای فعـال اکسـیژن، گیاهان با فعال نمـودن سیسـتم‌هـای دفـاعی نظیـر افـزایش فعالیـت آنزیم‌ها در مقابله با این اثـرات تخریـب کننـده مقاومـت مـی‌نماینـد. آزمایش اخیر نشان داد که در گیاه ختمی فعالیت دو آنزیم سوپراکسـید دیسموتاز و پراکسـیداز بعـد از چهـارده روز بـا افـزایش میـزان تـنش خشکی کاهش و فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیکی اکوتیپ‌های گیاه ختمی

Table 3- ANOVA for the effect of drought stress on physiological traits in Hollyhock ecotypes

منابع تغییرات Source of variations	درجه آزادی df	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز SOD activity	فعالیت پراکسیداز POD activity	فعالیت کاتالاز CAT activity	مالون دی آلدهید MDA	محتوی پرولین Proline content
اکوتیپ Ecotype	1	4317**	293**	3.85**	76.8**	0.01**
خشکی Drought	4	2432**	34.7**	15.01**	11**	0.38**
اکوتیپ×خشکی Ecotype×Drought	4	2233**	6.78**	0.420**	0.663**	0.001*
خطای آزمایش Experimental Error	20	5	0.06	0.001	0.02	0.001

**، * به ترتیب معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد.

** and *: significant at 0.01 and 0.05 of probability levels, respectively.

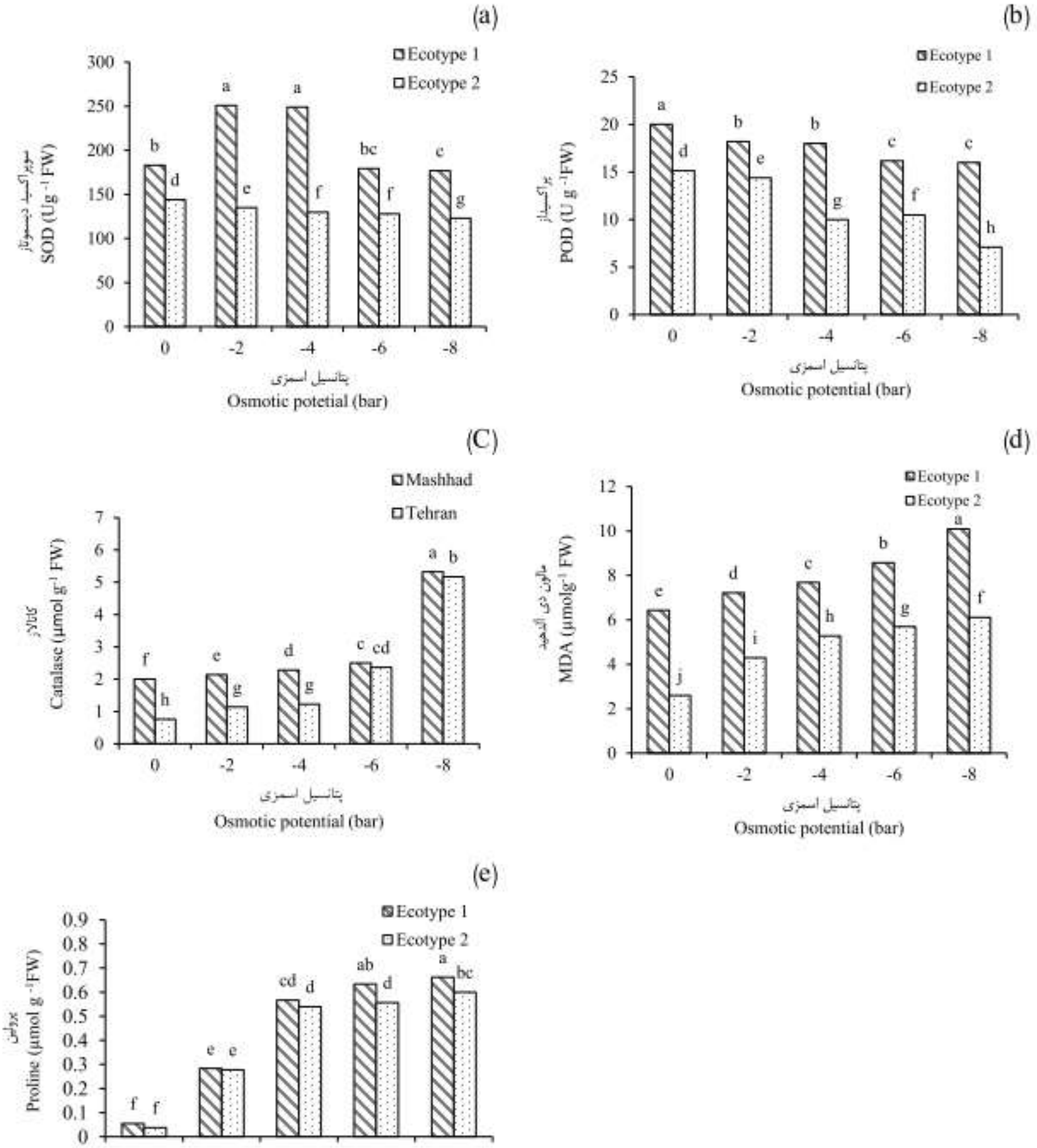
جدول ۴- اثر نوع اکوتیپ و تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیکی گیاه ختمی

Table 4- The effect of ecotype and drought stress on on physiological traits in Hollyhock plant

تیمارها Treatments		فعالیت سوپراکسید دیسموتاز SOD activity (U g^{-1}FW)	فعالیت پراکسیداز POD activity (U g^{-1}FW)	فعالیت کاتالاز CAT activity (μmol.$min^{-1}FW^{-1}$)	مالون دی آلدهید MDA (μmol g^{-1}FW)	محتوی پرولین Proline content (μg g^{-1}FW)
اکوتیپ Ecotype	اکوتیپ ۱ Ecotype 1	207 a	17.7 a	2.85 a	7.99 a	0.440 a
	اکوتیپ ۲ Ecotype 2	132 b	11.4 b	2.13 b	4.79 b	0.402 b
تنش خشکی Drought stress (bar)	0	193 a	17.6 a	1.38 e	4.51 e	0.05 e
	-2	189 b	16.3 b	1.63d	5.75 d	0.280 d
	-4	163 c	14 c	1.75 c	6.48 c	0.553 c
	-6	154 d	13.3 d	2.43 b	7.13 b	0.595 b
	-8	149 e	11.5 e	5.24 a	8.09 a	0.630 a

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letter within each column shows no significant differences among treatments at 5% of probability level by LSD test.



شکل ۲- اثرات متقابل اکوتیپ × تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (a)، پراکسیداز (b)، وکاتالاز (c)، مالون‌دی آلدهید (d) و محتوی پرولین (e) در گیاه ختمی

Figure 2- The interaction effects of ecotype ×drought stress on enzyme activity of superoxide dismutase (a), peroxidase (b), and catalase (c), malondialdehyde (d) and proline content (e) of Hollyhock plant. (LSD, *p≤0.05*)

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین صفات مختلف گیاه ختمی تحت تاثیر تنش خشکی

Table 5- Correlation coefficients between different traits in Hollyhock plant affected by drought stress

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
۱.درصد جوانه‌زنی 1.Germination percentage	1									
۲. سرعت جوانه‌زنی 2.Germination rate	0.83^{**}	1								
۳.طول ریشه‌چه 3.Radicle length	0.96^{**}	0.72^{**}	1							
۴. طول ساقه‌چه 4. Plumule length	0.72^{**}	0.86^{**}	0.58^{**}	1						
۵.وزن تر 5. Fresh weight	0.94^{**}	0.67^{**}	0.99^{**}	0.54^{**}	1					
۶. فعالیت سوپراکسیددیسموتاز 6.SOD	0.82^{**}	0.67^{**}	0.84^{**}	0.43^{*}	0.87^{**}	1				
۷. فعالیت پراکسیداز 7.POD	0.93^{**}	0.76^{**}	0.92^{**}	0.74^{**}	0.93^{**}	0.76^{**}	1			
۸. فعالیت کاتالاز 8.CAT	-0.20^{ns}	-0.44^{*}	-0.06^{ns}	-0.71^{**}	-0.02^{ns}	-0.01^{ns}	-0.26^{ns}	1		
۹.مالون دی آلدهید 9.MDA	0.34^{ns}	-0.11^{ns}	0.58^{**}	-0.34^{ns}	0.58^{**}	0.51^{**}	0.31^{ns}	0.66^{**}	1	
۱۰. پرولین 10. Proline	-0.41^{*}	-0.72^{**}	-0.25^{ns}	-0.83^{**}	-0.18^{ns}	-0.05^{ns}	-0.44^{*}	0.61^{**}	0.63^{**}	1

**، * و ns: به‌ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

**, *and ns: Significant at 1% and 5% of probability levels and non-significant, respectively.

این نتایج با نتایج تحقیقات لی و همکاران (۳۰) که نشان دادند میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و POD تحت تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی گیاه *Eremosparton songoricum* کاهش یافت، همسو می‌باشد. از طرفی افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نشان می‌دهد که شاید مهمترین آنزیم دخیل در مقاومت به تنش خشکی در گیاه ختمی می‌باشد که در طی چهارده روز افزایش یافته است. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین درصد و سرعت جوانه‌زنی با فعالیت آنزیم‌های SOD و POD مشاهده شد (جدول ۵)، بطوری‌که که با کاهش فعالیت این دو آنزیم درصد جوانه‌زنی کاهش یافته است. در حقیقت در شرایط تنش خشکی، کاهش جذب آب با کاهش فعالیت‌های آنزیمی همراه می‌باشد که علت اصلی کاهش سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی است. در سطوح بالای تنش خشکی واسرشت شدن ساختمان سه بعدی آنزیم‌ها می‌توانند یکی از دلایل اصلی کاهش سرعت جوانه‌زنی باشد (۱۵).

نتایج نشان داد که میزان مالون‌دی آلدهید و پرولین در اکوتیپ مشهد نسبت به اکوتیپ تهران به‌ترتیب ۸۳ و ۳۵ درصد افزایش یافت. همچنین در هر دو اکوتیپ با افزایش پتاسیل اسمزی میزان این دو شاخص افزایش یافت بنحوی‌که بیشترین میزان مالون‌دی آلدهید (۸/۰۹ میکرومول بر گرم وزن تر) و پرولین (۰/۶۳۰ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار ۸- بار به ثبت رسید (جدول ۴). نتایج اثرات متقابل نشان داد که بیشترین میزان مالون‌دی آلدهید در اکوتیپ مشهد در تیمار ۸- بار (۱۰/۱ میکرومول بر گرم وزن تر) و کمترین میزان آن در تیمار شاهد اکوتیپ تهران (۲/۶ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۲، d). ازطرفی بیشترین میزان پرولین در هر دو اکوتیپ در ۸- بار و کمترین میزان آن در شاهد به ثبت رسید (شکل ۲، e). این نتایج نشان داد که پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب غشاء در پتانسیل اسمزی بالاتری رخ می‌دهد و گیاه ختمی در برابر تنش‌های متوسط مقاوم می‌باشد اما شدت خشکی بالاتر را در مرحله جوانه‌زنی تحمل نمی‌نماید. از طرفی محدود شدن فعالیت آنزیم‌ها و افزایش میزان پرولین در ختمی نشان داد که افزایش مقاومت به تنش خشکی در گیاه ختمی بیشتر بستگی به تجمع مواد محافظت‌کننده نظیر پرولین دارد. همچنین تغییرات مالون‌دی آلدهید بستگی به گیاه، نوع و رقم دارد بنحوی‌که در گل مرواریدی (*Alternanthera philoxeroides*) تحت تنش خشکی این فاکتور در ریشه و برگ‌ها هیچ تغییر معنی‌داری را به ثبت نرساند اما در گیاه برنج (*Oryza sativa*) تحت تنش ۶۰ روز، در ریشه ۳۰ ٪ و در برگ‌ها به میزان ۶۰ ٪ افزایش یافت (۱۷). گوا و همکاران (۲۱) در آزمایشی نشان دادند که میزان پرولین در گیاهان تحت تنش خشکی نسبت به شاهد ۲/۵ برابر شد.

همچنین افزایش میزان پرولین در اطلسی (*Petunia* spp.) در شرایط تنش خشکی نیز گزارش شده است (۴۶). به واسطه مقاومت بیشتر اکوتیپ مشهد میزان جذب آب در آن بالاتر بوده و در نتیجه درصد و سرعت جوانه‌زنی افزایش یافته است. اگر جذب آب توسط بذر مختل گردد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی به آرامی صورت می‌گیرد و با خروج دیرتر ریشه‌چه سرعت جوانه‌زنی نیز کاهش می‌یابد. هر دو اکوتیپ با افزایش میزان فعالیت آنزیمی نظیر کاتالاز و تجمع اسیدهای آمینه نظیر پرولین نسبت به تنش خشکی واکنش نشان دادند. همانگونه که نتایج این تحقیق نشان می‌دهد اکوتیپ مشهد در مرحله جوانه‌زنی تحت شرایط تنش خشکی نسبت به اکوتیپ تهران عملکرد قوی‌تری داشت، در حقیقت تفاوت در شرایط اکولوژیکی که دو جمعیت در آن رشد یافته‌اند باعث اعطای ویژگی‌های فیزیولوژیکی متفاوت در آنها شده است.

منابع

1. Abdollahi J., Tafaroji S.H., Ebrahimi M., Ramshini H.A., Dehghani Tafti A.R., Mortazavian M., Eftekhari M., Dezfoulian A.H., and Bagheri A. 2012. Effect of drought stress on germination and seedling growth of *Salvia* species. African Journal of Agricultural Research 7: 5719-5725.
2. Abido W.A.E., and Zsombik L. 2018. Effect of water stress on germination of some Hungarian wheat landraces varieties. Acta Ecologica Sinica 38: 422-428.
3. Achakzai A.K.K. 2014. Imbibition, germination and lipid mobilization response by sunflower subjected to salt stress. Pakistan Journal of Botany 46: 1995-2002.
4. Agrawal R.L. 1991. Seed Technology. Oxford & IBH Publishing, 658p.
5. Ahmed B., Roy C.D., Subramaniam S.A., Ganie D., Kwatra D., Dixon D., Anant A., Zarqar M.A., and Umar S. 2016. An ornamental plant targets epigenetic signaling to block cancer stem cell driven colon carcinogenesis. Carcinogenesis 37: 385-396.
6. Akhavan Barmaki M., Azanivand H., Osare M.H., Jafari Y.A., and Tavili A. 2013. Evaluation of drought stress effects on germination indices of four genotypes grassland of *Bromus tomentellus.* Agricultural Water Management Journal 66: 167-177. (In Persian with English abstract)
7. Akhavan Barmaki M., Hashemi M., Azarnivand H., Osare M.H., Jafari A.A., and Tavili A. 2013. Effect of drought stress on growth and germination characteristics of three genotype of *Agropyron trichophorum*. Desert Ecosystem Engineering Journal 2: 9-14. (In Persian with English abstract)
8. Alscher R., Heath A., Erturk N., and Heath L.S. 2002 Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany 53: 1331-1341.
9. Bagheri H., Ghazi Khanloosani Y., Zangani E., Andelibi B., Azimi Moghadam M.R., and Jamshidi S. 2012. Seed germination indices and initial growth of safflower seedlings with different thousand kernel weights under drought stress. Agroecology Journal 8: 1-12. (In Persian with English abstract)
10. Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
11. Burt S.A., and Reinders R.D. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against Escherichia coli O157: H7. Letters in Applied Microbiology 36: 162-167.
12. Chen K., and Arora R. 2011. Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination, and seedling establishment in Spinach (*Spinacia oleracea*). Plant Science 180: 212-20.
13. Chen Z., Wang Z., Yang Y., Li M., and Xu B. 2018. Abscisic acid and brassinolide combined application synergistically enhances drought tolerance and photosynthesis of tall fescue under water stress. Scientica Horticulturae 228: 1-9.
14. Ebadi M.T., Azizi M., and Farzane A. 2011. Effect of drought stress on germination factors of four improved cultivars of german chamomile (*Matricaria recutita* L.). Journal of Plant Product 18: 119-132. (In Persian with English abstract)
15. Fabian A., Jager K., and Barnabas B. 2008. Effects of drought and combined drought and heat stress on germination ability and seminal root growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. Journal of Acta Biologica 52: 157-159.
16. Fathi A., and Barari Tari D. 2016. Effect of drought stress and its mechanism in plants. International Journal of Life Sciences 10: 1-6.
17. Gao J.M., Xiao Q., Ding L.P., Chen M.J., Yin L., Li J.Z., Zhou S., and He G. 2008. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in *Alternanthera philoxeroides* and *Oryza sativa* subjected to drought stress. Plant Growth Regulation 56: 89-95.
18. Ghodke P.H., Andhale P.S., Gijare U.M., Thangasamy A., Khade Y.P., Mahajan V., and Singh M. 2018. Physiological and biochemical responses in onion crop to drought stress. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 7: 2054-2062.
19. Giannopolitis C.N., and Ries S.K. 1977. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. Plant. Physiology

59: 309-314.
20. Gill S.S., and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48:909-930.
21. Guo Q., Wang Y., Zhang H., Qu G., Wang T., Sun Q. and Liang D. 2017. Alleviation of adverse effects of drought stress on wheat seed germination using atmospheric dielectric barrier discharge plasma treatment. Scientific Reports 7: 1666-1680.
22. Hasanuzzaman M., Anwar Hossain M., Teixeira daSilva J.A., and Fujita M. 2011. Plant Response and Tolerance to Abiotic Oxidative Stress: Antioxidant Defense Is a Key Factor. Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies, pp 261-315.
23. Heath R.L., and Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.
24. Hussain L., Akash M.S.H., Tahir M., Rehman K., and Ahmed K.Z. 2014 Hepatoprotective effects of methanolic extract of *Alcea rosea* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice**.** Bangladesh Journal of Pharmacology 9: 322-327.
25. In, B.C., Motomura S., Inamoto K., Doi M., and Mori G. 2007. Multivariente analysis of relation between preharvest environmental factors, postharvest morphological and physiological factors and vase life of cut *Asomi Red Roses*. Jpn. Soc. Hortic. Sci. 76: 66-72.
26. IPCC. 2014. In: R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.), Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
27. Jajarmi V. 2009. Effect of water stress on germination indices in seven wheat cultivar. World Academy of Science Engineering and Technology 49: 105-106.
28. Khalid M.N., Iqbal H.F., Tahir A., and Ahmad A.N. 2001. Germination potential of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) under saline condition. Journal of Biological Science 4: 395-396.
29. Kusvuran S., and Dasgan H.Y. 2017. Drought induced physiological and biochemical responses in *Solanum lycopersicum* genotypes differing to tolerance. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus Horticulture 16: 19-27.
30. Li H., Li X., Zhang D., Liu H. and Guan K. 2013. Effects of drought stress on the seed germination and early seedling growth of the endemic desert plant *Eremosparton songoricum* (Fabaceae). Excil Journal 12: 89-101.
31. Lim T.K. 2014. Edible medicinal and nonmedicinal plants. Flowers 8: 292-299.
32. Liu M., Li M., Liu K., and Sui N. 2015. Effects of drought stress on seed germination and seedling growth of different maize varieties. Journal of Agricultural of Science 7: 231-240.
33. Luck H. 1974. Catalase. In Methods of Enzymatic Analysis, Vol. II, edited by J Bergmeyer and M Grabi, Academic Press, New York. Pp 885-890.
34. Mantovani A., and Iglesias R.R. 2010. The effect of water stress on seed germination of three terrestrial bromeliads from restinga. Brazilian Journal of Botany 33: 201-205.
35. Michel B.E., and Kaufman M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Physiology 51: 914-916.
36. Noman A., Aqeel M., Deng J., Khalid N., Sanaullah T., and Shuilin H. 2017. Biotechnological advancements for improving floral attributes in ornamental plants. Frontiers in Plant Science 8: 1-15.
37. Pakravan M., and Ghahreman A. 2003: Some new combinations and synonyms in *Alcea* (Malvaceae) from Iran. Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien 104: 713-716.
38. Penfield S. 2017. Seed dormancy and germination. Current Biology 27: 874-878.
39. Şevik H., and Ertürk N. 2015. Effects of drought stress on germination in fourteen provenances of *Pinus Brutia* Ten. seeds in Turkey. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology 3: 294-299.
40. Seyyednejad S.M., Koochak H., Darabpour E., and Motamedi H. 2010. A survey on *Hibiscus rosa sinensis*, *Alcea rosea* L. and *Malva neglecta* Wallr as antibacterial agents. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 3: 351-355.
41. Seyyed-Sharifi R., and Seyyed-Sharifi R. 2009. The effects of polyethyleneglycol on germination and seedling growth of carthamus cultivars. Iranian Journal of Biology 21: 400-410. (In Persian with English abstract)
42. Stefania Toscano S., Romana D., Tribulata A., and Patane C. 2017. Effect of drought stress on seed germination of ornamental sunflowers. Acta Physiologiae Plantarum 39:1-12.
43. Sun Y.D., Du X.H., Zhang W.J., Sun L., and Li R. 2011. Seed germination and physiological characteristics of *Amaranthus mangostanus* L. under drought stress. Advanced Mater Research Switzerland 183: 1071–1074.
44. Tajamolian M., Sodaei zadeh H., and Shamsaie M. 2017. Evaluation of the effects of drought stress of mother plants on some seed germination indices of *Satureja hortensis.* Desert Management 8: 27-35. (In Persian with English abstract)
45. Wang W.B., Kim Y.H., Lee H.S., Kim K.Y., Deng X.P., and Kwak S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology and Biochemistry 47: 570-577.

46. Yamada M., Morishita H., Urano K., Shiozaki N., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., and Yoshiba Y. 2005. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. Journal of Experimental Botany 56: 1975-1981.
47. Yan D., Duermeyer L., Leoveanu C., and Nambara E. 2014. The functions of the endosperm during seed germination. Plant Cell Physiology 55: 1521-1533.
48. Zamani Z., Amiri H., and Ismaili A. 20018. Effect of drought stress on germination characteristics of two populations of Fenugreek (*Trigonella foenumsubsp*.graceum L.). Nova Biologica Reperta 5: 183-191. (In Persian with English abstract)

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.4, Winter 2022, P. 479-492
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۴۹۲-۴۷۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Effect of Drought Stress on Seed Germination Variables and Physiological Traits of Ornamental Hollyhock (*Alcea rosea* L.)

T. Oraee[1]- M. Shoor[2*]- A. Tehranifar[3]- S.H. Nemati[4]
Received: 27-06-2018
Accepted: 24-07-2019

Introduction: The Hollyhock (*Alcea rosea*) is a summer flowering biennial plant that is native to China and belongs to the Malvaceae family. It is one of the most valuable ornamental plants, whose 36 species are cultivated in Iran. It is an increasing garden escape, especially in urban areas, and is usually found at foot of walls, in ruderal areas, and in cracks of pavements and old walls. Also, it is sometimes seen on riverbanks (for instance on dikes of the river Maas), dumps or road- and railway banks. *Alcea rosea* has been used as an herbal plant in folk medicine for treatment of different diseases such as common cold and cough. This plant is antiphlogistic, astringent, demulcent, diuretic and expectorant. Drought is the most significant environmental stress in agriculture worldwide, and improving yield under drought is a major goal of plant breeding. Seed germination and early seedling growth are potentially the most critical stages for water stress. When subjected to drought stress, plant metabolism is interrupted or inhibited by increasing reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation, resulting in reduced germination, weaker root and shoot growth and even mortality. Plants have evolved oxygen-scavenging systems consisting of non-enzyme antioxidant metabolites, such as proline and various antioxidant enzymes including superoxide dismutase, peroxidase and catalase.

Materials and Methods: In order to examine the effect of drought stress on germination indexes, various antioxidant enzyme changes and non-enzyme antioxidant metabolites in *Alcea rosea*, an experiment was conducted in complete randomized design with three replications. The drought stress treatment was conducted in five levels with osmotic pressures 0, -2, -4, -6, and -8 bar and with using PEG (Poly Ethylene Glycol 6000) on two ecotypes of *Alcea rosea* (ecotype 1= Mashhad and ecotype 2= Tehran). The seeds are at first sterilized with hypo chloride sodium for two minutes and then washed superficially three times with distilled water. 25 seeds were transferred to a glass petri dish with 10 cm diameter, and for the duration of the experiment, 5 ml solution with different levels was added to each petri dish. After 14 days at 25±1 ºC temperature, the number of geminated seeds in each day was counted and recorded. In the first part of the experiment, after the end of the germination period, the following growth parameters were measured: germination percentage, germination rate, root and shoot length, and the fresh weight of seedling. In the second part, the activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), malondialdehyde content, lipid peroxidation in terms of malondialdehyde (MDA) content, and proline index were measured.

Results and Discussion: The ecotype, drought treatments and their interaction had significant effects on growth parameters (germination percentage, germination rate, radicle and plumule length, and seedling fresh weight), as well as physiological and biochemical parameters (SOD, POD, CAT, MDA and proline). The highest germination parameters were recorded at Mashhad ecotype. Germination percentage and germination rate were severely affected by drought. Maximum percentage of germination (36) was recorded at control group followed by 32.1 at -2 bar and -4 bar PEG treatments in ecotype 1. Germination percentage in two ecotypes further declined to 33% at -8 bar compared to the control treatment. In both ecotypes, plants had the highest germination rate in control media (zero osmotic potential) but germination rate decreased significantly by decreasing water potential. Germination rate of control seeds of ecotype 1 was 11.7, while that of ecotype 2 was 8. 3. Germination rate in two ecotypes further declined to 56% and 38 %, at -8 bar compared to the control treatment, respectively. Ecotype 2 displayed a significant reduction in radicle and plumule length compared to the ecotype 1. Generally, the radicle and plumule length decreased significantly in relation to the drought stress caused by PEG. Ecotype 2 in -8 bar PEG treatment had the highest (41 and 32%) decrease in radicle and plumule length compared to the control temperature. In two ecotypes (Mashhad and Tehran) of *Alcea rosea*, increasing PEG concentrations resulted in a decrease in fresh and dry weights. Water absorption is the first germination stage. Due to the probable resistance of the ecotype one, water absorption rate is higher, and as a result, the percentage and rate of germination have increased. Ecotype 1 exhibited higher leaf SOD activities in response to -2 bar compared to -8

1, 2, 3 and 4- Ph.D., Associate Professor, Professor and Assistant Professor of Department of Horticultural Science and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.
(*- Corresponding Author Email: shoor@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.60838.0

bar, but the SOD activities in ecotype 2 showed a general increase trend with increases in the PEG concentration. Drought stress resulted in lower antioxidant enzyme activities (POD) in leaves of both ecotypes compared to that observed at the control treatment, but the activity of CAT increased with the increase of drought stress. In both ecotypes, exposure to -8 bar resulted in significantly higher leaf MDA activities. Plants exhibited higher proline in response to -8 bar treatment compared to the control. By increasing the PEG concentration from control to -8 bar, proline content increased about 90 percent. In this experiment, drought stress reduced the rate and germination percentage and delayed subsequent plant deployment. When plants are subjected to drought stress, their metabolism is interrupted or inhibited by increasing reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation, resulting in reduced germination, weaker root and shoot growth and even mortality. The recent experiment showed that the activity of two superoxide dismutase and peroxidase enzymes decreased with increasing drought stress, and the activity of the catalase enzyme increased; this is in agreement with the results reported by other studies. On one hand, the increase in the activity of the catalase enzyme indicates that it is perhaps the most important enzyme involved under drought condition, which increased over the course of 14 days. On the other hand, limiting the activity of enzymes and increasing the amount of proline showed that increasing the resistance to drought stress in the plant depends on the accumulation of contaminating substances such as proline.

Conclusion: Due to the higher resistance of the ecotype 1 and increase in water absorption, the percentage and rate of germination were increased. If water absorption is disturbed by the seed, the germination activity is slowly applied and the later growth of the roots will decrease the germination rate. Therefore, it seems that Mashhad ecotype with increase of catalase and proline has the highest drought tolerance compared to the other ecotype at germination stage. There was a significant correlation between germination percentage with SOD and POD.

Keywords: Osmotic potential, Ornamental hollyhock, Germination percentage, Physiological and biochemical indexes